

艾草种子的化学成分研究

薛贵民^{1,2}, 赵晨光^{1,2}, 薛金凤^{1,2}, 星贵福^{1,2}, 赵珍珠^{1,2}, 杜 锐^{1,2}, 司盈盈^{1,2}, 孙彦君^{1,2}, 冯卫生^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 研究艾草 *Artemisia argyi* 种子部位的化学成分。方法 利用现代色谱分离技术包括大孔树脂、C₁₈-ODS、Sephadex LH-20 及制备型 HPLC 进行分离纯化, 根据 NMR、MS 等波谱数据及化合物的理化性质鉴定化合物结构。结果 从艾叶种子 95%乙醇提取物中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为 desacetylmaticarin(1)、3-methoxytanaparholide(2)、3 α -chloro-8 α -acetoxy-4 β ,10 α -dihydroxy-1 β ,2 β -epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide (3)、1 α ,6 α ,8 α -trihydroxy-5 α ,7 β H-guaia-3,10(14),11(13)-trien-12-oic acid (4)、11 α ,13-二氢魃蒿内酯(5)、魃蒿内酯(6)、tuberiferin(7)、8-acetylrupicolin B(8)、lirioresinol A(9)、丁香树脂酚(10)、dehydroleucodine(11)、leukodin(12)、matricarin(13)、8-acetylrupicolin A(14)、methyl-4S-6 α -hydroxy-3-oxoeudesma-1,11(13)-dien-12-oate(15)、滨蒿内酯(16)、异东茛菪素(17)、8-羟基-6,7-二甲氧基香豆素(18)。结论 化合物 4 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 2、3、5、8~12、14~16、18 首次从艾草中分离得到。化合物 6~8、11、15 在 10 μ mol/L 时对胃癌细胞 MGC-803 抑制率为 61.8%~67.5%, 具有显著的抑制活性。

关键词: 艾草; 倍半萜; 木脂素; 香豆素; 滨蒿内酯; 8-羟基-6,7-二甲氧基香豆素; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)09-2605-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.09.002

Chemical constituents from seeds of *Artemisia argyi*

XUE Gui-min^{1,2}, ZHAO Chen-guang^{1,2}, XUE Jin-feng^{1,2}, XING Gui-fu^{1,2}, ZHAO Zhen-zhu^{1,2}, DU Kun^{1,2}, SI Ying-ying^{1,2}, SUN Yan-jun^{1,2}, FENG Wei-sheng^{1,2}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the seeds of *Artemisia argyi*. **Methods** The chemical constituents from the seeds of *A. argyi* were isolated and purified by modern chromatographic separation techniques such as macroporous resin, C₁₈-ODS, Sephadex LH-20 and preparative HPLC. The structures were identified by the NMR, MS spectra data and physicochemical properties analysis. **Results** Eighteen compounds were isolated and identified from 95% ethanol extract from the seeds of *A. argyi*, and their structures were identified as desacetylmaticarin (1), 3-methoxytanaparholide (2), 3 α -chloro-8 α -acetoxy-4 β ,10 α -dihydroxy-1 β ,2 β -epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide (3), 1 α ,6 α ,8 α -trihydroxy-5 α ,7 β H-guaia-3,10(14),11(13)-trien-12-oic acid (4), 11 α ,13-dihydroymogin (5), yomogin (6), tuberiferin (7), 8-acetylrupicolin B (8), lirioresinol A (9), syringaresinol (10), dehydroleucodine (11), leukodin (12), matricarin (13), 8-acetylrupicolin A (14), methyl-4S-6 α -hydroxy-3-oxoeudesma-1,11(13)-dien-12-oate (15), scoparone (16), isoscopoletin (17), and 8-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin (18). **Conclusion** Compound 4 is separated from the genus of *Artemisia* for the first time. Compounds 2, 3, 5, 8–12, 14–16 and 18 are isolated from *A. argyi* for the first time. Cytotoxic effects of compounds 1–18 are investigated in four different gastric cancer cell lines, and the results show that compounds 6–8, 11 and 15 have significant inhibitory activity on MGC-803 cell line at 10 μ mol/L with the inhibition rate in the range 61.8%–67.5%.

Key words: *Artemisia argyi* Lévl. et Vant.; sesquiterpenoid; lignan; coumarin; scoparone; 8-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin; antitumor activity

收稿日期: 2021-11-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82003606); 河南省高等学校重点科研项目(21A360002); 河南省科技攻关项目(182102310288); 河南中医药大学科研苗圃工程项目(MP2020-29); 河南省高等学校大学生创新训练计划项目(CXXM[2019]0064)

作者简介: 薛贵民, 男, 博士, 讲师, 从事中药活性成分研究。E-mail: xueguimin123@126.com

*通信作者: 冯卫生, 男, 博士生导师, 教授, 从事中药活性成分研究。E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

艾草 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. 菊科蒿属植物, 别名蕪艾、艾蒿、蓬蒿、灸草、医草、黄草等, 是一种常见的传统中药。药用部位是其晒干或阴干的叶子, 多是在春夏之季叶茂盛未开花时进行采摘^[1]。其为多年生草本或略成半灌木状, 植株有浓烈香气。在我国除了极干旱与高寒地区外, 在各省几乎均有分布。艾叶关于其药物的描述要追溯到战国时期的医书《黄帝内经》。其作为传统中药开始广泛使用出现在陶弘景的著作《名医别录》中, 并正式记载了其功效。中医学在长期的实践中总结认为艾叶性味苦、温、辛, 有逐寒湿、温经、理气血、止血、安胎等功效, 在临床上主要应用于出血症、内科、妇科、各类杀虫止痒等疾病^[2-5]。艾叶作为治病的药物大概已有 2000 年以上的历史, 近年来, 特别是对艾叶的研究逐渐深入, 其应用范围也逐渐拓展。

现代化学成分研究表明, 艾草主要化学成分为挥发油, 其次还有黄酮类、倍半萜类、三萜类、鞣质类及多糖类等化学成分^[6-8]。其中除挥发油外, 倍半萜及其二聚体是艾草中特征性化学成分, 尤其是其中的倍半萜二聚体类化学成分因其独特药理活性和新颖的结构骨架被广泛的研究, 这些二聚体主要由倍半萜单体通过 Diels-Alder 加成方式聚合而成^[9-12]。本课题组在对艾叶前期研究过程中发现了多个 1,10-裂环愈创木烷参与的 Diels-Alder 加成形成的倍半萜二聚体, 其中包括骨架新颖的结构, 另外还分离得到了通过酯键连接的结构新颖的倍半萜二聚体, 这些倍半萜及二聚体多具有较好的抗肿瘤及抗炎活性^[13-16]。为了对艾草的化学成分进行进一步的研究, 选取其与之前研究不同且很少被报道的种子部位, 最终通过用二氯甲烷冷浸提取, 综合利用大孔吸附树脂色谱、C₁₈-ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、制备液相等分离纯化手段对其进行化学成分的研究, 共分离得到 18 个单体化合物, 分别为 desacetylmaticarin (1)、3-methoxytanaparholide (2)、3 α -chloro-8 α -acetoxy-4 β ,10 α -dihydroxy-1 β ,2 β -epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide (3)、1 α ,6 α ,8 α -trihydroxy-5 α ,7 β H-guaia-3,10(14),11(13)-trien-12-oic acid (4)、11 α ,13-二氢魁蒿内酯 (11 α ,13-dihydroymogin, 5)、魁蒿内酯 (yomogin, 6)、tuberiferin (7)、8-acetylupicolin B (8)、lirioresinol A (9)、丁香树脂酚 (syringaresinol, 10)、dehydroleucodine (11)、leukodin (12)、maticarin (13)、8-acetylupicolin A (14)、methyl-4S-6 α -

hydroxy-3-oxoeudesma-1,11(13)-dien-12-oate (15)、滨蒿内酯 (scoparone, 16)、异东莨菪素 (isoscopoletin, 17)、8-羟基-6,7-二甲氧基香豆素 (8-hydroxy-6,7-dimethoxycoumarin, 18)。其中, 化合物 4 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 2、3、5、8~12、14~16、18 首次从艾草中分离得到。化合物 6~8、11、15 对胃癌 MGC-803 细胞具有显著的抑制活性。

1 仪器与材料

预制硅胶薄层 G 板 (10~40 μ m 青岛海洋化工厂); 大孔树脂 Diaion HP-20 (日本三菱化学); ODS (40~60 μ m, YMC); Sephadex LH-20 (40~70 μ m, Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, 瑞士); LC-52 型高压制备液相色谱仪 [赛谱锐思 (北京) 科技有限公司]; Bruker AVANCE 500 核磁共振仪 (TMS 为内标); Bruker maxis HD 型飞行时间质谱仪 (德国 Bruker 公司); SCIEX Qtrap 5500 质谱仪 (美国应用生物系统公司), 所用分析纯和色谱纯试剂为天津恒兴和天津四友精细化学有限公司生产。

人胃癌 MGC-803、MKN-45、HGC-27 和 AGS 细胞株均购买自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

艾草种子 2018 年 7 月 19 日购买自于江苏省宿迁市, 经河南中医药大学董诚明教授鉴定为艾草 *A. argyi* Lévl. et Vant. 的种子, 标本 (20180719) 收藏于河南中医药大学天然产物研究室。

2 提取与分离

艾草的种子部位 3.0 kg, 用 95%乙醇超声提取, 浓缩得总浸膏 (211.0 g)。总浸膏与水混悬后依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取得到相关部位。其中取二氯甲烷部位 (43.0 g) 过大孔吸附树脂色谱柱, 依次用水及 30%、60%、75%、90%、100%乙醇系统梯度洗脱, 所得洗脱溶剂分别浓缩合并得 6 个组分, 依次为 Fr. A~F。其中组分 Fr. C (13.0 g) 经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱分离合并后得到 3 个部位, 分别为 Fr. C1~C3。Fr. C2 (5.6 g) 进一步过凝胶柱色谱, 得 Fr. C2I (0.1 g)、Fr. C2II (1.1 g)、Fr. C2III (1.3 g)、Fr. C2V (1.8 g)。其中 Fr. C2III 过反相 C₁₈-ODS 柱色谱依次用 10%~100%甲醇梯度洗脱, 得 15 个部位 Fr. C2III-1~15。Fr. C2III-5 通过半制备 HPLC, 以 20%乙腈 (体积流量 10 mL/min) 等度洗脱, 得到化合物 1 (11.0 mg, t_R = 37.4 min)、2 (3 mg, t_R = 47.7 min)、3 (4.5 mg, t_R =

50.3 min)。Fr. C2III-6 以 25%乙腈 (体积流量 10 mL/min) 等度洗脱, 采用半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **4** (5.3 mg, $t_R=27.0$ min)。Fr. C2III-7 段以 25%乙腈 (体积流量 10 mL/min) 等度洗脱, 进一步制备分离得化合物 **5** (8.6 mg, $t_R=51.3$ min)、**6** (7.6 mg, $t_R=57.3$ min)。Fr. C2III-8 以 30%乙腈 (体积流量 10 mL/min) 等度洗脱, 采用半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **8** (3.3 mg, $t_R=51.7$ min) 和 **10** (3.0 mg, $t_R=31.7$ min)。Fr. C2III-9 采用制备 HPLC, 以 45%乙腈 (体积流量 10 mL/min) 梯度洗脱, 得到 3 个部位 Fr. C2III-9-1~3。Fr. C2III-9-1 通过半制备 HPLC 以 34%乙腈 (体积流量 3 mL/min) 等度洗脱分离纯化得化合物 **9** (8.0 mg, $t_R=26.8$ min)。Fr. C2III-9-2 通过半制备 HPLC 以 50%~65%甲醇 (体积流量 3 mL/min) 梯度洗脱, 分离纯化得化合物 **7** (4.0 mg, $t_R=31.0$ min)。Fr. C2III-9-3 通过半制备 HPLC 以 50%~65%甲醇 (体积流量 3 mL/min) 梯度洗脱分离纯化得化合物 **11** (1.8 mg, $t_R=33.7$ min) 和 **12** (2.1 mg, $t_R=42.6$ min)。Fr. C2III-10 采用制备 HPLC, 以 27%~43%乙腈 (体积流量 3 mL/min) 梯度洗脱, 最后分离纯化得化合物 **13** (2.5 mg, $t_R=22.1$ min)、**14** (1.9 mg, $t_R=28.7$ min) 和 **15** (2.1 mg, $t_R=35.4$ min)。Fr. C2III-11 段采用制备 HPLC, 以 30%~43%乙腈 (体积流量 3 mL/min) 梯度洗脱, 最后分离纯化得化合物 **16** (2.7 mg, $t_R=45.4$ min)。Fr. C2V 段用反相 C_{18} -ODS 柱色谱分离, 依次用 10%~100%甲醇梯度洗脱, 最后得 6 个组分 Fr. C2V-1~C2V-6。其中 Fr. C2V-6 采用半制备 HPLC, 以甲醇-水 (20%~80%) 梯度洗脱 (体积流量 10 mL/min), 得到化合物 **16** (7.8 mg, $t_R=48.3$ min)、**17** (5.4 mg, $t_R=56.5$ min) 和 **18** (6.7 mg, $t_R=63.2$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 269.29 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.78 (1H, s, H-3), 3.38 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-5), 3.65 (1H, t, $J=10.0$ Hz, H-6), 2.13 (1H, m, H-7), 3.74 (1H, m, H-8), 2.36 (1H, $J=14.0, 2.0$ Hz, H-9a), 2.80 (1H, $J=14.0, 11.0$ Hz, H-9b), 2.55 (1H, dq, $J=14.0, 7.0$ Hz, H-11), 1.46 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-13), 2.43 (3H, s, H-14), 2.30 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 133.0 (C-1), 195.1 (C-2), 135.5 (C-3), 170.1 (C-4), 51.7 (C-5), 81.3 (C-6), 61.5 (C-7), 69.8 (C-8), 41.3 (C-9), 145.5 (C-10), 41.5 (C-11), 175.2 (C-12), 15.9

(C-13), 21.7 (C-14), 19.9 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[17], 故鉴定化合物 **1** 为 desacetyl-matricarin。

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 315.32 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.67 (1H, dd, $J=18.0, 6.0$ Hz, H-2a), 2.32 (1H, dd, $J=18.0, 2.0$ Hz, H-2b), 4.30 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-3), 4.98 (1H, t, $J=5.0$ Hz, H-6), 3.06 (1H, m, H-7), 1.96 (1H, m, H-8a), 1.87 (1H, m, H-8b), 2.56 (2H, m, H-9), 6.35 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-13a), 5.66 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-13b), 2.13 (3H, s, H-14), 2.15 (3H, s, H-15), 3.41 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.5 (C-1), 40.3 (C-2), 79.8 (C-3), 138.9 (C-4), 171.3 (C-5), 75.4 (C-6), 43.3 (C-7), 27.0 (C-8), 39.3 (C-9), 207.2 (C-10), 138.1 (C-11), 170.0 (C-12), 122.8 (C-13), 29.7 (C-14), 14.2 (C-15), 56.6 (3'-OCH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[18], 故鉴定化合物 **2** 为 3-methoxytanaparholide。

化合物 **3**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 395.79 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.90 (1H, brs, H-2), 4.09 (1H, brs, H-3), 2.91 (1H, d, $J=11.0$ Hz, H-5), 4.38 (1H, t, $J=10.0$ Hz, H-6), 3.99 (1H, dt, $J=10.0, 9.4$ Hz, H-7), 5.28 (1H, m, H-8), 2.28 (1H, dd, $J=17.0, 6.0$ Hz, H-9a), 1.98 (1H, d, $J=17.0$ Hz, H-9b), 6.24 (1H, d, $J=3.5$ Hz, H-13a), 5.53 (1H, d, $J=3.5$ Hz, H-13b), 1.59 (3H, s, H-14), 1.20 (3H, s, H-15), 2.17 (3H, s, 2'-COCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 72.7 (C-1), 63.8 (C-2), 64.0 (C-3), 79.7 (C-4), 50.1 (C-5), 74.5 (C-6), 47.7 (C-7), 72.2 (C-8), 42.3 (C-9), 71.4 (C-10), 137.7 (C-11), 169.0 (C-12), 121.4 (C-13), 24.3 (C-14), 27.6 (C-15), 170.3 (C-1'), 21.5 (C-2')。以上数据与文献报道对照基本一致^[19], 故鉴定化合物 **3** 为 3 α -chloro-8 α -acetoxy-4 β ,10 α -dihydroxy-1 β ,2 β -epoxy-5 α ,7 α H-guai-11(13)-en-12,6 α -olide。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 303.31 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.88 (1H, d, $J=17.1$ Hz, H-2a), 2.88 (1H, brd, $J=17.0$ Hz, H-2a), 2.33 (1H, brd, $J=17.0$ Hz, H-2b), 5.53 (1H, brs, H-3), 2.67 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-5), 3.83 (1H, dd, $J=10.3, 9.4$ Hz, H-6), 2.94 (1H, m, H-7), 3.89 (1H, m, H-8), 2.62 (1H, dd, $J=13.8, 5.7$ Hz, H-9a), 2.52 (1H, dd, $J=13.8, 4.7$ Hz, H-9b), 6.26 (1H, d, $J=3.0$ Hz, 13a),

6.16 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, 13b), 5.43 (1H, s, H-14a), 5.43 (1H, s, H-14b), 1.92 (3H, s, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 84.7 (C-1), 46.3 (C-2), 124.5 (C-3), 141.1 (C-4), 65.8 (C-5), 79.3 (C-6), 51.5 (C-7), 72.6 (C-8), 40.5 (C-9), 145.0 (C-10), 137.7 (C-11), 169.9 (C-12), 123.3 (C-13), 116.5 (C-14), 17.7 (C-15)。以上数据与文献报道对照基本一致^[20], 故鉴定化合物 **4** 为 $1\alpha,6\alpha,8\alpha$ -trihydroxy- $5\alpha,7\beta$ H-guaia-3,10(14),11(13)-trien-12-oic acid。

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 269.29 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.78 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1), 6.24 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2), 2.81 (1H, dd, $J = 14.0, 6.0$ Hz, H-6a), 2.08 (1H, t, $J = 13.5$ Hz, H-6b), 2.49 (1H, m, H-7), 4.49 (1H, m, H-8), 2.49 (1H, m, H-9a), 1.60 (1H, dd, $J = 15.0, 4.5$ Hz, H-9b), 2.93 (1H, m, H-11), 1.31 (3H, d, $J = 9.0$ Hz, H-13), 1.32 (3H, s, H-14), 1.96 (3H, s, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 155.5 (C-1), 126.2 (C-2), 185.8 (C-3), 131.3 (C-4), 155.5 (C-5), 24.7 (C-6), 42.0 (C-7), 76.5 (C-8), 39.1 (C-9), 39.0 (C-10), 42.3 (C-11), 178.5 (C-12), 9.6 (C-13), 25.4 (C-14), 10.9 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[21], 故鉴定化合物 **5** 为 $11\alpha,13$ -二氢魃蒿内酯。

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 267.27 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.83 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1), 6.28 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2), 3.02 (1H, dd, $J = 14.0, 6.0$ Hz, H-6a), 2.33 (1H, t, $J = 13.0$ Hz, H-6b), 3.12 (1H, m, H-7), 4.53 (1H, m, H-8), 2.48 (1H, dd, $J = 15.5, 2.5$ Hz, H-9a), 1.72 (1H, dd, $J = 15.5, 4.5$ Hz, H-9b), 6.30 (1H, brs, H-13a), 5.77 (1H, brs, H-13b), 1.36 (3H, s, H-14), 2.00 (3H, s, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 155.1 (C-1), 126.4 (C-2), 185.5 (C-3), 131.1 (C-4), 154.8 (C-5), 29.7 (C-6), 42.0 (C-7), 75.3 (C-8), 38.9 (C-9), 38.4 (C-10), 140.1 (C-11), 169.5 (C-12), 121.6 (C-13), 25.3 (C-14), 10.5 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[22], 故鉴定化合物 **6** 为魃蒿内酯。

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 269.29 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.71 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1), 5.91 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2), 2.58 (1H, m, H-4), 2.13 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 2.58 (1H, m, H-7), 2.01 (1H, m, H-8a), 1.79 (1H, m, H-8b), 1.66 (2H, m, H-9), 6.12 (1H, d, $J = 3.0$

Hz, H-13a), 5.44 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 1.16 (3H, s, H-14), 1.41 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 157.9 (C-1), 127.0 (C-2), 200.3 (C-3), 42.3 (C-4), 52.5 (C-5), 82.2 (C-6), 50.4 (C-7), 21.4 (C-8), 37.4 (C-9), 38.5 (C-10), 138.5 (C-11), 170.1 (C-12), 117.6 (C-13), 19.5 (C-14), 14.8 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[23], 故鉴定化合物 **7** 为 tuberiferin。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 327.33 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.89 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2a), 2.32 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2b), 5.55 (1H, brs, H-3), 2.68 (1H, m, H-5), 3.88 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 3.28 (1H, m, H-7), 4.92 (1H, m, H-8), 2.68 (1H, m, H-9a), 2.56 (1H, dd, $J = 13.8, 4.7$ Hz, H-9b), 6.23 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-13a), 5.64 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 5.41 (1H, brs, H-14a), 5.14 (1H, s, H-14b), 1.92 (3H, s, H-15), 2.16 (3H, s, 2'-COCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 84.6 (C-1), 46.0 (C-2), 124.8 (C-3), 140.6 (C-4), 65.0 (C-5), 79.3 (C-6), 48.1 (C-7), 74.4 (C-8), 36.4 (C-9), 144.0 (C-10), 137.0 (C-11), 169.4 (C-12), 122.7 (C-13), 117.7 (C-14), 17.7 (C-15), 170.3 (C-1'), 21.3 (C-2')。以上数据与文献对比基本一致^[24], 故鉴定化合物 **8** 为 8-acetylrupecolin B。

化合物 **9**: 白色粉末, 10%硫酸-乙醇显墨绿色。三氯化铁反应呈阳性, 提示该化合物含有酚羟基。ESI-MS m/z : 441.43 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.60 (2H, s, H-2, H-6), 4.42 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 2.91 (1H, m, H-8), 3.86 (1H, m, H-9a), 4.14 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-9b), 2.59 (2H, s, H-2', 6'), 4.85 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-7'), 3.34 (1H, m, H-8'), 3.34 (1H, m, H-9'a), 3.86 (1H, m, H-9'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 134.5 (C-1), 102.9 (C-2, 6), 147.3 (C-3, 5), 133.8 (C-4), 132.3 (C-6), 88.1 (C-7), 54.7 (C-8), 71.1 (C-9), 129.6 (C-1'), 102.5 (C-2', 6'), 147.2 (C-3', 5'), 141.7 (C-4'), 64.2 (C-5'), 79.2 (C-6'), 82.2 (C-7'), 50.2 (C-8'), 69.8 (C-9'), 56.5 (4 \times -OCH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[25], 故鉴定化合物 **9** 为 lirioreosinol A。

化合物 **10**: 白色粉末, 10%硫酸-乙醇显墨绿色。三氯化铁反应呈阳性, 提示该化合物含有酚羟基。ESI-MS m/z : 441.43 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.73 (2H, m, H-9, 9'), 3.09 (2H, m, H-8, 8'),

4.28 (2H, m, H-7, 7'), 6.59 (4H, s, H-2, 6, 2', 6')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 54.5 (C-7, 7'), 71.9 (C-9, 9'), 86.2 (C-7, 7'), 102.8 (C-2, 6, 2', 6'), 132.3 (C-1, 1'), 134.4 (C-4, 4'), 147.3 (C-3, 5, 3', 5'), 56.5 ($4\times\text{-OCH}_3$)。以上数据与文献对比基本一致^[26], 故鉴定化合物 **10** 为丁香树脂酚。

化合物 **11**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 267.27 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.18 (1H, s, H-3), 3.51 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-5), 3.62 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 1.96 (1H, m, H-7), 1.44 (1H, m, H-8a), 2.21 (1H, m, H-8b), 2.38 (1H, dd, $J = 14.0, 5.5$ Hz, H-9a), 2.51 (1H, t, $J = 14.0$ Hz, H-9b), 6.18 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.46 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 2.44 (3H, s, H-14), 2.33 (3H, s, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 132.1 (C-1), 195.9 (C-2), 135.7 (C-3), 169.3 (C-4), 52.9 (C-5), 84.1 (C-6), 53.0 (C-7), 24.3 (C-8), 37.2 (C-9), 151.9 (C-10), 138.5 (C-11), 169.0 (C-12), 119.1 (C-13), 21.7 (C-14), 19.7 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[27], 故鉴定化合物 **11** 为 dehydroleucodine。

化合物 **12**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 269.29 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.16 (1H, s, H-3), 3.41 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-5), 3.62 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 1.96 (1H, m, H-7), 1.35 (1H, m, H-8a), 2.00 (1H, m, H-8b), 2.34 (1H, m, H-9a), 2.42 (1H, m, H-9b), 2.24 (1H, m, H-11), 1.27 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13), 2.45 (3H, s, H-14), 2.32 (3H, s, H-15); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 132.0 (C-1), 195.7 (C-2), 135.5 (C-3), 169.9 (C-4), 52.6 (C-5), 84.1 (C-6), 56.3 (C-7), 26.0 (C-8), 37.1 (C-9), 152.1 (C-10), 41.3 (C-11), 177.5 (C-12), 12.2 (C-13), 21.5 (C-14), 19.5 (C-15)。以上数据与文献对比基本一致^[17], 故鉴定化合物 **12** 为 leukodin。

化合物 **13**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 327.33 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.19 (1H, s, H-3), 3.40 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-5), 3.71 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 2.33 (1H, m, H-7), 4.84 (1H, td, $J = 10.5, 1.5$ Hz, H-8), 2.38 (1H, dd, $J = 13.5, 2.0$ Hz, H-9a), 2.72 (1H, dd, $J = 13.5, 11.0$ Hz, H-9b), 2.49 (1H, m, H-11), 1.34 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13), 2.44 (3H, s, H-14), 2.30 (3H, s, H-15), 2.12 (3H, s, $2'\text{-COCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 133.2 (C-1), 195.3 (C-2), 135.7 (C-3), 169.8 (C-4), 51.5

(C-5), 81.4 (C-6), 59.0 (C-7), 70.0 (C-8), 44.5 (C-9), 145.2 (C-10), 40.4 (C-11), 176.5 (C-12), 15.2 (C-13), 21.1 (C-14), 19.9 (C-15), 169.9 (C-1'), 21.2 (C-2')。以上数据与文献对比基本一致^[17], 故鉴定化合物 **13** 为 matricarin。

化合物 **14**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 327.33 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.62 (2H, q, $J = 16.0$ Hz, H-2), 5.48 (1H, brs, H-3), 2.82 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-5), 3.94 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-7), 5.32 (1H, m, H-8), 5.49 (1H, m, H-9), 6.29 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.69 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 5.41 (1H, brs, H-14a), 51.94 (1H, s, H-14b), 1.94 (3H, s, H-15), 2.16 (3H, s, $2'\text{-COCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 83.3 (C-1), 46.3 (C-2), 123.3 (C-3), 141.7 (C-4), 64.2 (C-5), 79.2 (C-6), 46.1 (C-7), 78.4 (C-8), 123.4 (C-9), 141.0 (C-10), 137.0 (C-11), 169.4 (C-12), 123.0 (C-13), 24.6 (C-14), 17.7 (C-15), 170.4 (C-1'), 21.3 (C-2')。以上数据与文献对比基本一致^[28], 故鉴定化合物 **14** 为 8-acetylrupicolin A。

化合物 **15**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 301.33 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.73 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1), 5.91 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-2), 2.94 (1H, m, H-4), 1.58 (1H, m, H-5), 3.97 (1H, td, $J = 10.5, 5.0$ Hz, H-6), 2.50 (1H, m, H-7), 1.88 (1H, m, H-8a), 1.96 (1H, dd, $J = 11.0, 6.0$ Hz, H-8b), 1.56 (1H, m, H-9a), 1.72 (1H, m, H-9b), 6.33 (1H, s, H-13a), 5.76 (1H, s, H-13b), 1.23 (3H, s, H-14), 1.25 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-15), 3.79 (3H, s, $1'\text{-OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 159.7 (C-1), 126.5 (C-2), 203.7 (C-3), 39.9 (C-4), 50.5 (C-5), 69.6 (C-6), 49.8 (C-7), 26.2 (C-8), 37.5 (C-9), 39.4 (C-10), 141.9 (C-11), 168.2 (C-12), 126.5 (C-13), 21.9 (C-14), 13.6 (C-15), 52.1 ($1'\text{-OCH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[29], 故鉴定化合物 **15** 为 methyl-4S-6 α -hydroxy-3-oxoeudesma-1,11(13)-dien-12-oate。

化合物 **16**: 无色晶体 (甲醇), 在紫外 254 nm 波长下显示蓝色荧光, ESI-MS m/z : 207.20 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ : 6.29 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.62 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 6.85 (1H, s, H-5), 6.86 (1H, s, H-8), 6.92 (3H, s, 6-OCH_3), 6.95 (3H, s, 7-OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 161.6 (C-2), 113.6 (C-3), 143.5 (C-4), 111.6 (C-4a),

108.1 (C-5), 146.5 (C-6), 153.1 (C-7), 100.2 (C-8), 150.2 (C-8a), 56.5 (6-OCH₃), 56.5 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道对照基本一致^[30], 故鉴定化合物 **16** 为滨蒿内酯。

化合物 **17**: 无色晶体 (甲醇), 在紫外 254 nm 波长下显示蓝色荧光, 10%浓硫酸-乙醇酸显示黄色。ESI-MS m/z : 193.18 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.29 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-3), 7.62 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 6.94 (1H, s, H-5), 6.87 (1H, s, H-8), 3.97 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 161.7 (C-2), 113.4 (C-3), 144.0 (C-4), 103.2 (C-5), 144.1 (C-6), 150.3 (C-7), 111.5 (C-8), 107.4 (C-4a), 150.0 (C-8a), 56.7 (7-OCH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[31], 故鉴定化合物 **17** 为异东莨菪素。

化合物 **18**: 白色粉末, 在紫外 254 nm 波长下显示蓝色荧光, 10%浓硫酸-乙醇酸显示黄色, ESI-MS m/z : 223.20 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.27 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-3), 7.59 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-6), 6.66 (1H, s, H-5), 3.94 (3H, s, 6-OCH₃), 4.09 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 161.7 (C-2), 113.5 (C-3), 144.5 (C-4), 100.1 (C-5), 153.1 (C-6), 138.3 (C-7), 140.4 (C-8), 114.4 (C-4a), 138.3 (C-8a), 60.1 (6-OCH₃), 55.5 (7-OCH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[32], 故鉴定化合物 **18** 为 8-羟基-6,7-二甲氧基香豆素。

4 化合物抗肿瘤活性研究

分别取对数生长期的 4 种不同的人胃癌细胞 MGC-803、MKN-45、HGC-27 和 AGS 细胞接种于 96 孔培养板中, 密度约为 5.0×10^3 个/孔, 培养过夜, 加入配制好的化合物 **1~18** 和阳性药 5-氟尿嘧啶溶液继续培养 48 h。然后每孔再加入配制好的 MTT 溶液, 孵育 4 h 后弃去培养液。最后每孔加入 150 μ L DMSO, 振荡 10 min, 然后用酶标仪在 570 nm 检测波长 (参比波长 630 nm) 下测定吸光度 (A) 值。根据 A 值计算不同浓度的药物对细胞的抑制率, 实验重复 3 次。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

活性筛选结果显示, 在 10 μ mol/L 时, 化合物 **6~8**、**11** 与 **15** 对 MGC-803 细胞具有显著的抑制活性, 其抑制率依次为 62.8%、63.4%、67.5%、61.8%、62.2% (阳性药 5-氟尿嘧啶抑制率为 46.7%)。另外化合物 **6~8**、**11** 与 **15** 在 10 μ mol/L 时对 MKN-45 细胞的抑制率相对较弱, 其抑制率为 30.5%~

59.0%。化合物 **1~18** 在 10 μ mol/L 对 HGC-27 细胞和 AGS 细胞无抑制活性 (抑制率均 < 10%)。

5 讨论

通过对艾草种子部位进行提取分离, 共得到 2 个木脂素类、3 个香豆素类以及 13 个倍半萜类化学成分, 并结合质谱、核磁共振波谱等技术阐明了其化学结构, 丰富了艾草化学成分类型。另外化合物 **6~8**、**11** 与 **15** (10 μ mol/L) 对 MGC-803 细胞抑制活性显著, 为抗胃癌先导化合物的发现提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 51.
- [2] 胡林峰, 崔乘幸, 吴玉博, 等. 艾蒿化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2010, 38(4): 75-78.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 15.
- [4] Wang S, Li J, Sun J, et al. NO inhibitory guaianolide-derived terpenoids from *Artemisia argyi* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 85: 169-175.
- [5] 王春柳, 万兆新, 周洁, 等. 艾叶挥发性成分对膝关节病作用机制的网络药理学探讨 [J]. 世界中医药, 2021, 16(20): 2975-2979
- [6] Kim J H, Kim H K, Jeon S B, et al. New sesquiterpene-monoterpene lactone, artemisolide, isolated from *Artemisia argyi* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43(35): 6205-6208.
- [7] Seo J M, Kang H M, Son K H, et al. Antitumor activity of flavones isolated from *Artemisia argyi* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(3): 218-222.
- [8] 王宇卿, 耿榕徽, 张须学. “宛艾”及其他产地艾叶中的桉油精、樟脑、龙脑含量 [J]. 世界中医药, 2020, 15(22): 3391-3395.
- [9] Hou X F, Yao S, Mándi A, et al. Bicinginines A and B, two new dimeric diterpenes from *Cunninghamia lanceolata* [J]. *Org Lett*, 2012, 14(2): 460-463.
- [10] Oikawa H, Tokiwano T. Enzymatic catalysis of the Diels-Alder reaction in the biosynthesis of natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2004, 21(3): 321-352.
- [11] Yang Y X, Shan L, Liu Q X, et al. Carpedilactones A-D, four new isomeric sesquiterpene lactone dimers with potent cytotoxicity from *Carpesium faberi* [J]. *Org Lett*, 2014, 16(16): 4216-4219.
- [12] Zhan Z J, Ying Y M, Ma L F, et al. Natural disesquiterpenoids [J]. *Nat Prod Rep*, 2011, 28(3): 594-629.

- [13] Xue G M, Han C, Chen C, *et al.* Artemisians A-D, diseco-guaianolide involved heterodimeric[4 + 2]adducts from *Artemisia argyi* [J]. *Org Lett*, 2017, 19(19): 5410-5413.
- [14] Xue G M, Zhu D R, Han C, *et al.* Artemisianins A-D, new stereoisomers of seco-guaianolide involved heterodimeric[4+2]adducts from *Artemisia argyi* induce apoptosis via enhancement of endoplasmic Reticulum stress [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 84: 295-301.
- [15] Xue G M, Zhu D R, Zhu T Y, *et al.* Lactone ring-opening seco-guaianolide involved heterodimers linked via an ester bond from *Artemisia argyi* with NO inhibitory activity [J]. *Fitoterapia*, 2019, 132: 94-100.
- [16] Lee S H, Lee M Y, Kang H M, *et al.* Anti-tumor activity of the farnesyl-protein transferase inhibitors arteminolides, isolated from *Artemisa* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(21): 4545-4549.
- [17] Martinez V M, Muñoz-Zamora A, Joseph-Nathan P. Conformational analysis of achillin and leukodin [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(2): 221-228.
- [18] Jakupovic J, Tan R X, Bohlmann F, *et al.* Sesquiterpene lactones from *Artemisia rutifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(5): 1714-1716.
- [19] Zan K, Tu P F. Chemical ingredients isolated from the aerial parts of *Artemisia anomala* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2010, 19(2): 95-99.
- [20] Hegazy M E F, Abdel-Lateff A, Gamal-Eldeen A M, *et al.* Anti-inflammatory activity of new guaiane acid derivatives from *Achillea coarctata* [J]. *Nat Prod Commun*, 2008, 3(6): 851-856.
- [21] 刘丹, 师宁宁, 吴叶红, 等. 冷蒿的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5090-5098.
- [22] Jakupovic J, Schuster A, Bohlmann F, *et al.* Lumiyomogin, ferreyrantholide, fruticolide and other sesquiterpene lactones from *Ferreyranthus fruticosus* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(4): 1113-1120.
- [23] Cano-Flores A, Delgado G. Transformations of some sesquiterpene lactones by filamentous fungi and cytotoxic evaluations [J]. *Chem Biodivers*, 2017, 14(10): e1700211.
- [24] Jakupovic J, Klemeyer H, Bohlmann F, *et al.* Glaucolides and guaianolides from *Artemisia afra* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(4): 1129-1133.
- [25] 周玉枝, 陈欢, 乔莉, 等. 红花化学成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(6): 380-382.
- [26] 陈玉琪, 苏娟, 沈云亨, 等. 丝毛瑞香化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 516-518.
- [27] Ordóñez P E, Quave C L, Reynolds W F, *et al.* Sesquiterpene lactones from *Gynoxys Verrucosa* and their anti-MRSA activity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(2): 1055-1059.
- [28] Jakupovic J, Klemeyer H, Bohlmann F, *et al.* Glaucolides and guaianolides from *Artemisia afra* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(4): 1129-1133.
- [29] 王美娇, 王金兰, 王丹, 等. 柳蒿化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5411-5418.
- [30] Zhao Y W, Ni F Y, Song Y L, *et al.* Chemical constituents from *Artemisia annua* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2014, 39(24): 4816-4821.
- [31] 邵霞, 林家红, 张丽. 甘遂的化学成分及其活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3383-3386.
- [32] 王青虎, 吴荣君, 齐格奇, 等. 蒙药铁杆蒿化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(16): 1380-1383.

[责任编辑 王文倩]